

UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL KULIT KAYU DAN DAUN GALAM DENGAN METODE BSLT

Ahmad Danial Rizkillah Az Zamzami¹, Isnaini², Alfi Yasmina²

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Email koresspondensi: 1710911310003@mhs.ulm.ac.id

Abstract: *Galam (Malaleuca cajuputi subs. Cuimingiana [Turcz.] Barlow) contains phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, tannins, steroids, and terpenoids, which are assumed to have toxic properties. Each part of the plant contains different compounds that might affect its biological activity. This study aimed to analyze the toxicity of the methanol extracts of galam leaves and tree bark with brine shrimp lethality test (BSLT). This research was experimental, and the samples used were the methanol extracts of galam leaves and tree bark with concentrations of 10, 100, 200, 500, and 1000 ppm. Toxicity was assessed with BSLT, and LC50 was analyzed using probit analysis. The results showed that the LC50 value for galam leaves methanol extract was 141.86 (110.77-177.07) ppm and for galam tree bark methanol extract was 610.50 (495.03-745.36) ppm. It can be concluded that galam leaves and tree bark methanol extracts was classified as toxic, with the methanol extract of galam leaves having a higher toxicity than the methanol extract of galam tree bark.*

Keywords: *toxicity, galam, Malaleuca cajuputi, brine shrimp lethality test*

Abstrak: *Tanaman galam (Malaleuca cajuputi subs. Cuimingiana [Turcz.] Barlow) mengandung steroid, fenol, alkaloid, terpenoid, tanin, dan flavonoid yang diduga memiliki sifat toksisitas. Bagian-bagian tanaman memiliki senyawa-senyawa yang berbeda, yang dapat mempengaruhi aktivitas biologisnya. Penelitian ini memiliki tujuan dalam menganalisa toksisitas ekstrak metanol kulit kayu dan daun galam dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium. Sampel yang digunakan adalah ekstrak metanol kulit kayu dan daun galam dengan konsentrasi 10, 100, 200, 500, dan 1000 ppm. Toksisitas dinilai dengan menggunakan metode BSLT dan dinyatakan dengan LC50. LC50 dianalisis menggunakan analisa probit. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai LC50 untuk ekstrak metanol daun galam sebesar 141, 86 (110,77-177,07) ppm dan untuk ekstrak metanol kulit kayu galam sebesar 610,50 (495,03-745,36) ppm. Dengan demikian, daun dan kulit kayu galam diklasifikasikan sebagai toksik, dengan ekstrak metanol daun galam mempunyai toksisitas lebih besar daripada ekstrak metanol kulit kayu galam.*

Kata-kata kunci: *toksisitas, galam, Malaleuca cajuputi, brine shrimp lethality test*

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan abnormal sehingga berpotensi merusak serta bermetastasis ke bagian tubuh yang lain. Hingga kini, kanker masih menjadi masalah kesehatan dunia. Tahun 2018 terdapat 18.078.957 kasus baru kanker di dunia; sedangkan di Indonesia, dari populasi 266.794.986 terdapat 348.809 kasus baru dengan jumlah kematian sebanyak 207.210. Tingginya jumlah kasus kanker ini memerlukan penanganan yang lebih serius.¹

Terapi penyakit kanker bisa dilakukan dengan radioterapi, terapi obat, dan operasi. Terapi obat bisa dilakukan menggunakan hormon, antimetabolit, senyawa penarget molekular, dan senyawa antitubulin.² Pemakaian obat-obat tersebut dapat memunculkan berbagai efek samping seperti rambut rontok, lesi gastrointestinal, supresi sumsum tulang, toksisitas jantung, hingga disfungsi neurologi. Hal ini mendorong penemuan obat alternatif baru yang bersifat antikanker, termasuk yang berasal dari tanaman. Bahan yang bersifat antikanker bisa didapatkan melalui proses ekstraksi tanaman ataupun melalui isolasi senyawa aktif tunggal dari tanaman.³ Salah satu tanaman yang berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker yaitu tanaman galem (*Malaleuca cajuputi* subsp. *Cuimingiana* [Turcz.] Barlow).

Tanaman galem merupakan tumbuhan yang berasal dari famili Myrtacea, yang hampir seluruh bagian dari tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai obat.⁴ Tanaman galem memiliki produk berupa minyak esensial yang mempunyai efek anti hyaluronidase. Hyaluronidase berfungsi mendepolimerisasi asam hyaluronat pada matriks ekstraseluler pada bagian jaringan ikat dan terlibat dalam efek migrasi kanker, alergi, dan inflamasi.⁵ Kulit kayu galem juga memiliki kandungan berupa flavonoid dan alkaloid yang diketahui merupakan senyawa toksik bagi sel

kanker; begitu juga daun galem memiliki kandungan berupa alkaloid, saponin dan flavonoid.^{6,7} Penelitian tentang toksisitas pada kulit kayu dan daun galem belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini akan digunakan ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem, karena metanol merupakan pelarut yang bersifat polar dan juga lebih baik dalam mengekstraksi senyawa metabolit sekunder fenolik.⁸

Aktivitas antikanker pada tanaman bisa dievaluasi dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji ini menilai toksisitas dalam suatu ekstrak atau senyawa aktif, dengan menghitung jumlah kematian *Artemia salina* Leach yang diberi ekstrak atau senyawa aktif tersebut.⁹

Belum pernah dilakukan studi tentang toksisitas ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem. dari hal tersebut perlu dilakukan uji penelitian toksisitas ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem dengan menggunakan metode BSLT.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini dilakukan uji eksperimental laboratorik bertujuan dalam mengetahui toksisitas ekstrak metanol kulit kayu dan daun tanaman galem dengan metode BSLT pada larva udang *Artemia salina* L. Penelitian ini memiliki 2 tahap. Tahap yang pertama adalah uji fitokimia bertujuan mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun dan kulit kayu galem. Tahap kedua adalah uji toksisitas menggunakan metode *brine shrimp lethality test* untuk menentukan LC₅₀ dari ekstrak daun dan kulit kayu galem. Penelitian dilakukan di laboratorium farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru November hingga Desember 2020. Bahan yang digunakan adalah kulit kayu dan daun galem (*Malaleuca cajuputi*) yang diperoleh di Kompleks Universitas Lambung Mangkurat Kayu Tangi Banjarmasin, Kalimantan Selatan.

Metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi. Sebanyak 100 g simplisia dimasukkan dalam botol kaca dengan tutup, kemudian dituangkan larutan penyari (metanol: asam asetat: air = 50:49,5:0,5) secara perlahan-lahan, lalu diaduk hingga merata. Setiap 2x24 jam, filtrat dilakukan penyaringan dan pelarut dilakukan penggantian sambil diaduk. Ekstraksi diperlakukan sebanyak 3 kali. Setelah itu ekstrak dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator pada tekanan tinggi dengan temperatur 60 °C sampai didapatkan ekstrak metanol yang kental.

Uji Fitokimia ada beberapa uji yang dilakukakn. Uji Dragendroff: Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml ditambah dengan 1 ml reagent Dragendrofft. adanya endapan merah menunjukkan makna terdapatnya alkaloid.¹⁰ Uji Mayer: Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml ditambah dengan 1 ml reagen Mayer. Terbentuknya endapan kuning menunjukkan makna adanya alkaloid.¹⁰ Uji fenol (Uji Besi III Klorida): Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml ditambah dengan 1 ml FeCl₃ 3%. terdapatnya endapan hijau kehitaman menunjukan tanin.¹⁰ Uji Reagen Alkalin: Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml ditambahkan tetesan larutan NaOH. terdapatnya warna kuning yang memudar setelah ditetes dengan asam, memiliki makna positif flavonoid.¹⁰ Uji Timbal Asetat: Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml diberikan 1 ml Pb asetat 10% kemudian dihomogenkan. perubahan warna yang terjadi menjadi coklat kekuningan, memiliki makna positif flavonoid.¹⁰ Uji Antrakuinon: Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml dilarutkan dalam 5 ml akuades. Campuran disaring, ditambah dengan 2,5 ml benzena. Kemudian ekstrak ditetes amonia, kemudian dihomogenkan. Adanya warna merah menunjukkan makna terdapatnya antrakuinon.¹¹ Uji Saponin

(Metode Foam): Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml air, kemudian dihomogenkan. adanya foam atau busa yang bertahan selama 10 menit menunjukkan makna terdapatnya saponin.¹⁰ Uji terpenoid (Salkowski's test): Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml diekstraksi dengan kloroform, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat, lalu dikocok. Jika campuran berwarna kuning menunjukkan adanya triterpen.¹⁰ Tanin (Uji Gelatin): Ekstrak direaksikan dengan larutan FeCl₃ 1%., kemudian ditambahkan dengan larutan gelatin, jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung tanin.¹⁰ Uji Steroid: Ekstrak metanol kulit kayu atau daun galem sebanyak 1 ml ditetes dengan kloroform, kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat kemudian diberikan asam asetat anhidrat, lalu dilakukan pemanasan dan pendinginan. kemudian dilakukan penambahan asam sulfat yang pekat yang dialirkan melalui dinding tabung, apabila tedapat cincin coklat menunjukan makna terdapatnya steroid.¹⁰

Uji Toksisitas Metode BSLT melalui beberapa tahap. Penetasan larva udang *A. salina* dilakukan di dalam bejana dengan dua bagian yaitu pertama terang dan yang kedua gelap. Zona berwarna gelap merupakan aerator dan telur nantinya akan diletakan, sedangkan untuk zona berwarna terang nantinya akan diberikan lampu yang akan dipertahankan selama 48 jam agar pencahayaan pada saat dilakukan penetasan dapat memberikan pemisahan dari telur dan udang yang telah menetas. Telur akan menetas dalam kurun waktu 24 jam, dan pada umur 48 jam siap dijadikan target uji toksisitas.⁹

Uji toksisitas diawali dengan larva yang dipipet sebanyak 20 ekor pada 10 ml air laut dengan salinitas yang sama sebesar 35‰. Agar ekstrak metanol kulit kayu dan daun larut, ditambahkan DMSO dengan konsentrasi 0,05%. Ekstrak yang diuji

dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm. Setiap vial masing-masing berisikan 10 ml larutan dengan konsentrasi yang berbeda-beda sebesar 10, 100, 200, 500 dan 1000 ppm. dilakukan 3 replikasi. Kontrol negatif merupakan larutan tanpa adanya penambahan pada ekstrak, hanya ditambahkan DMSO konsentrasi 0,05% dan air laut dengan salinitas 35‰. Larutan nantinya akan didiamkan selama 24 jam, lalu dilakukan penghitungan larva yang hidup dan mengalami kematian.^{9,12,13}

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia kualitatif bertujuan dalam melakukan pengecekan kandungan senyawa pada ekstrak metanol daun dan kulit kayu galem. Hasil Uji fitokimia dilihat dalam tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan kulit kayu galem

Senyawa	Hasil	
	EMKKG	EMDG
Alkaloid		
a. Uji Dragendroff	-	+
b. Uji Mayer	+	-
Polifenol	+	+
Flavonoid		
a. Uji Reagen Alkaloid	+	+
b. Uji Timbal Asetat	+	+
Antrakuinon	-	-
Saponin	-	+
Terpenoid	+	+
Steroid	+	+
Tanin	+	+

Keterangan:

EMKKG = Ekstrak Metanol Kulit Kayu Galem

EMDG = Ekstrak Metanol Daun Galem

+= Mengandung senyawa

- = Tidak mengandung senyawa

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem sama-sama mengandung senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, dan terpenoid. Perbedaan kandungan antara kedua bagian tanaman galem tersebut terletak pada

senyawa saponin yang hanya dimiliki oleh daun galem.

Uji toksisitas dengan metode BSLT berfungsi untuk mencari nilai LC_{50} dengan menghitung rata-rata dan persentase kematian larva udang *Artemia salina* L. Jumlah Kematian Larva Udang Setelah Pemberian Ekstrak Metanol Daun dan Kulit Kayu Galem dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Jumlah kematian larva udang setelah pemberian ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem

Bagian Tanaman Galem	Konsentrasi (ppm)	Kematian		
		R1	R2	R3
Daun	1000	20	20	20
	500	20	20	20
	200	15	16	14
	100	5	5	6
	10	0	0	0
Kulit Kayu	1000	20	20	20
	500	3	2	3
	200	0	0	0
	100	0	0	0
	10	0	0	0

Keterangan :

R1 = Replikasi 1

R2 = Replikasi 2

R3 = Replikasi 3

Tabel 3. Rata-rata tiap replikasi dan persentase kematian larva udang *artemia salina* l.

Bagian Tanaman Galem	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	
		K	%K
Daun	1000	20	100%
	500	20	100%
	200	25	75%
	100	5,33	26,66%
	10	0	0%
Kulit Kayu	1000	20	100%
	500	3	15%
	200	0	0%
	100	0	0%
	10	0	0%

Keterangan:

K = Kematian

%K = Persentase kematian

Persentase kematian yang didapat selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai LC₅₀ ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem. Hasil analisis probit ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai LC₅₀ ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem

Bagian Tanama Galem	LC ₅₀ (ppm)	Lower Bound (ppm)	Upper Bound (ppm)
Daun	141,86	110,77	177,07
Kulit Kayu	610,50	495,03	745,36

Hasil analisis probit pada tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun galem memiliki nilai LC₅₀ yang lebih rendah daripada ekstrak metanol kulit kayu galem, hal ini berarti ekstrak metanol daun galem memiliki sifat toksik yang lebih tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 141,86 (110,77-177,07) ppm. Nilai LC₅₀ pada ekstrak metanol kulit kayu galem sebesar 610,50 (495,03-745,36) ppm. Ekstrak metanol daun dan kulit kayu galem diklasifikasikan toksik karena nilai LC₅₀ untuk keduanya berada dalam rentang 30-1000 ppm.⁹

Toksisitas ekstrak metanol daun tanaman galem lebih tinggi daripada kulit kayu galem. Hal ini diduga karena kandungan senyawa yang dimiliki kedua bagian tanaman sedikit berbeda. Kandungan yang hampir sama dibuktikan dengan hasil uji skrining fitokimia yang hasil kedua bagian tanaman memiliki senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, dan terpenoid yang diduga memiliki efek toksik, tetapi daun galem juga memiliki senyawa lain yaitu saponin yang diduga juga memiliki efek toksik.^{6,7}

PENUTUP

Terdapat sedikit perbedaan antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit kayu dan daun galem. Keduanya sama-sama mengandung polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, dan terpenoid, tetapi hanya ekstrak daun yang

mengandung senyawa saponin. Pada uji toksistas dengan metode BSLT, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun galem memiliki nilai LC₅₀ yang lebih rendah daripada ekstrak metanol kulit kayu galem, hal ini berarti ekstrak metanol daun galem memiliki sifat toksik yang lebih tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 141,86 (110,77-177,07) ppm. Nilai LC₅₀ pada ekstrak metanol kulit kayu galem sebesar 610,50 (495,03-745,36) ppm. Ekstrak metanol daun dan kulit kayu galem diklasifikasikan toksik karena nilai LC₅₀ untuk keduanya berada dalam rentang 30-1000 ppm.

Untuk pengembangan penelitian lebih lanjut, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menilai kuantitas kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker dalam tanaman galem dan Dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan metode uji toksistas yang lain, misalnya secara in vitro pada sel kanker atau secara in vivo pada model antikanker pada hewan coba lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization: World Global Cancer Association. Indonesia cancer data 2018. 2019 [Cited: 2020 Jul 20] Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-factsheets.pdf>.
2. Nussbaumer S, Bonnabry P, Veuthey JL, Sandrine F. Analisis of anti-cancer drug: A review. *Talanta* 2011; 85: 2265-89.
3. Hosseini A, Ghorbani A. Cancer therapy with phytochemicals: evidence from clinical studies. *Avicenna J Phytomed* 2015; 5 (2): 84-97.
4. Soedibyo BRAM. Alam sumber kesehatan manfaat dan kegunaan. Jakarta: Balai Pustaka; 1998. p. 81.
5. Pujiarti R, Ohtani R, Ichiura H. Anti-oxidant, antihyaluronidase and anti-fungal activitis of *Malaleuca cajuputi* subsp. *Cuimingiana* (Turcz.) Barlow.

- leaf oil. The Japan Wood Research Society 2012; 58(5):429–36.
6. Wardhani RRAAK, Akhyard O, Prasiska E. Analisis skrining fitokimia, kadar total fenol-flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit kayu tanaman galam rawa gambut (*Melaleuca cajuputi* Roxb). Al Ulum Sains dan Teknologi. 2018; 4(1): 39-45.
7. Wardhani RRAAK, Akhyard O, Prasiska E. Fitokimia, fenol-flavonoid ekstrak daun dan buah galam rawa gambut (*Melaleuca cajuputi* Roxb). Quantum. Jurnal Inovasi Pendidikan Sains 2018; 9(2): 133-4.
8. Solis PN, Wright CQ, Anderson MM, Gupta MP, Phillipson JD. A microwell toxicity assay using *Artemia salina* L. (brine shrimp). *Planta Medica* 1993; 59: 250-2.
9. Meyer BN, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nicols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 1982; 45: 31-4.
10. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Int Pharm Sci.* 2011; 1(1):103-4.
11. Koleva II, Van Beek TA, Linssen JPH, De Groot A, Evstatieva LN. Screening of plant extract for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 2002. 13: 8-17.
12. Juniarti, Osmeli D. Senyawa kimia, uji sitotoksitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan antioksidan (1, 1-diphenyl-2- pikrilhydrazyl) dari ekstrak daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *Jurnal Makara Sains* 2009: 13(1): 50-4.
13. Dahlan MS. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: bivariat, multivariat, dan deskriptif, dilengkapi aplikasi menggunakan SPSS. Edisi 6. Jakarta: Epidemi Indonesia; 2014. p. 91–117.